

DESENVOLVIMENTO DE UM CURATIVO À BASE DE POLISSACARÍDEOS E EXTRATO DE JAMBOLÃO PARA MONITORAMENTO DE INFECÇÕES BACTERIANAS EM FERIDAS

Mateus da Silva Muni¹, João Vithor Martins Dias¹, Mariza Modolon Martins¹, Sara Mendes de Medeiros Bittencourt¹, e Karine Modolon Zepon¹ (orientadora)

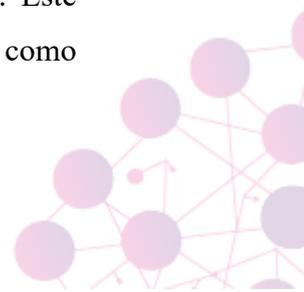
RESUMO:

O fruto do jambolão colhido fresco, foi moído, filtrado e liofilizado. O teor de antocianinas totais (TAC) estudo foi de 100,38 mg/L (2007 mg/100 g de extrato do fruto do jambolão liofilizado). O extrato liofilizado do fruto do jambolão mostrou uma coloração pH-dependente e atividade antibacteriana em concentrações superiores a 3,75 mg/mL.

INTRODUÇÃO:

A pele é responsável por diversas funções que auxiliam na manutenção da homeostase, sendo que uma de suas funções mais importantes é agir como barreira protetora contra agentes agressores químicos, físicos e microbiológicos. Ao ser lesionada, a pele inicia um complexo e intricado processo biológico a fim de promover sua rápida e completa cicatrização. Alguns fatores como a presença de quadros infecciosos, por exemplo, podem retardar o processo de cicatrização e assim aumentar o risco de transformar a lesão em uma ferida crônica. Quando presente, as infecções bacterianas podem estar na forma planctônica (individualizadas) ou na forma de biofilmes (agregados), sendo esta última forma muito mais difícil de ser tratada com os antibióticos tradicionais. As bactérias *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa) e *Staphylococcus aureus* (S. aureus) são as espécies bacterianas comumente encontradas em biofilmes. Tipicamente, a presença de quadros de infecção bacteriana leva à um aumento do pH no leito da ferida em função da produção de urease por algumas bactérias. Este aumento no pH pode não somente afetar o desempenho dos antibióticos, como

¹ Laboratório de Biomateriais e Biomiméticos



propiciar um ambiente favorável para sua proliferação retardando o processo de cicatrização. A antocianina, composto fenólico presente em uma grande variedade de plantas, pode ser utilizada como um indicador de pH uma vez que é capaz de mudar sua colocação de acordo com o pH variando entre vermelho, roxo, azul, amarelo ou cores secundárias. Essa mudança ocorre em função da alteração da estrutura química da antocianina. Além disso, as antocianinas também possuem funções biológicas atuando como bactericida, anti-inflamatório, antiviral, antioxidante e antialérgico. O fruto do jambolão (*Syzygium cumini*) é composto por vários tipos de antocianinas. Embora a antocianina tenha grande potencial para ser utilizada como indicador do pH em lesões, faz-se necessário sua associação à estruturas com maior sustentação mecânica visando mitigar sua lixiviação para o leito da ferida e igualmente facilitar sua aplicação e remoção. Os hidrogéis além de possuírem uma estrutura capaz de reter a antocianina, são capazes de prover uma barreira mecânica e manter a umidade da ferida acelerando o processo de cicatrização. Cientes disso, o presente estudo busca avaliar o uso do extrato seco do fruto de jambolão (*Syzygium cumini*) incorporado a um hidrogel à base de alginato e hialuronato de sódio como indicador de pH para monitoramento de infecções bacterianas em feridas.

PALAVRAS-CHAVE:

Curativo, ferida, jambolão, bactérias.

MÉTODO:

O fruto do jambolão foi colhido na região da cidade de Tubarão. Para a preparação do extrato aquoso, 500 g de frutos de jambolão foram triturados em um moedor de facas com 500 mL de água ultrapura. O extrato obtido foi submetido a um sistema de filtração a vácuo utilizando um filtro de celulose e congelado por 48 horas. Posteriormente foi liofilizado. O extrato foi utilizado imediatamente após liofilização para evitar seu umedecimento. A determinação do teor de antocianinas totais (TAC; mg/L) presente no extrato liofilizado do fruto do jambolão foi feita pelo método espectrofotométrico pH diferencial. Para avaliação da propriedade pH responsiva, 0,5 mL de extrato aquoso do fruto do jambolão foi adicionado em tubos plásticos e o

volume de 2 mL completados com as soluções com pHs entre 2,0 e 13. A coloração da solução obtida foi então analisada visualmente e por espectroscopia de ultravioleta-visível. A definição da concentração mínima inibitória do extrato do fruto de jambolão foi feita pelo método de microdiluição em caldo de caseína de soja utilizando placas de 96 poços. Nesse caso, cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (modelo gram-negativo) e *Staphylococcus aureus* (modelo gram-positivo) foram previamente semeadas em ágar caseína de soja por 24 horas a $32,5 \pm 2,5$ °C e as suspensões bacterianas padronizadas na escala 0.5 McFarland (contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Então, 100 µL das suspensões bacterianas foram diluídas em 10 mL de salina estéril. Em seguida, diferentes alíquotas do extrato aquoso de jambolão (obtido a partir da solubilização de 10 mg do extrato liofilizado em 100 mL de água) foram diluídas em caldo caseína de soja para a obtenção das seguintes concentrações: 30, 15, 7,5, 3,75, 1,87, 0,93, 0,46, 0,23 e 0,11 µg/mL. Os poços usados para a avaliação antibacteriana receberam 50 µL de caldo de caseína de soja, 50 µL de suspensão bacteriana e 100 µL das amostras diluídas. O controle negativo foi composto de 200 µL de caldo sem inóculo e o controle positivo foi composto de 150 µL de caldo e 50 µL de suspensão bacteriana. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica em temperatura de $32,5 \pm 2,5$ °C por 24 horas. A turbidez foi determinada usando uma leitora automática de microplacas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os frutos do jambolão utilizados nesse estudo (Fig. 1a) foram moídos, o conteúdo macerado com água ultrapura, filtrado e liofilizado (Fig. 1b). O TAC (teor de antocianinas totais) calculado para o extrato preparado neste estudo foi de 100,38 mg/L (2007 mg/100 g de extrato do fruto do jambolão liofilizado). A capacidade do extrato aquoso do fruto do jambolão em servir como indicador de pH foi inicialmente analisada de forma visual (Fig. 1c). Como podemos observar, o extrato do fruto do jambolão foi capaz de alterar visualmente sua coloração diante das alterações de pH ao que estava exposto.

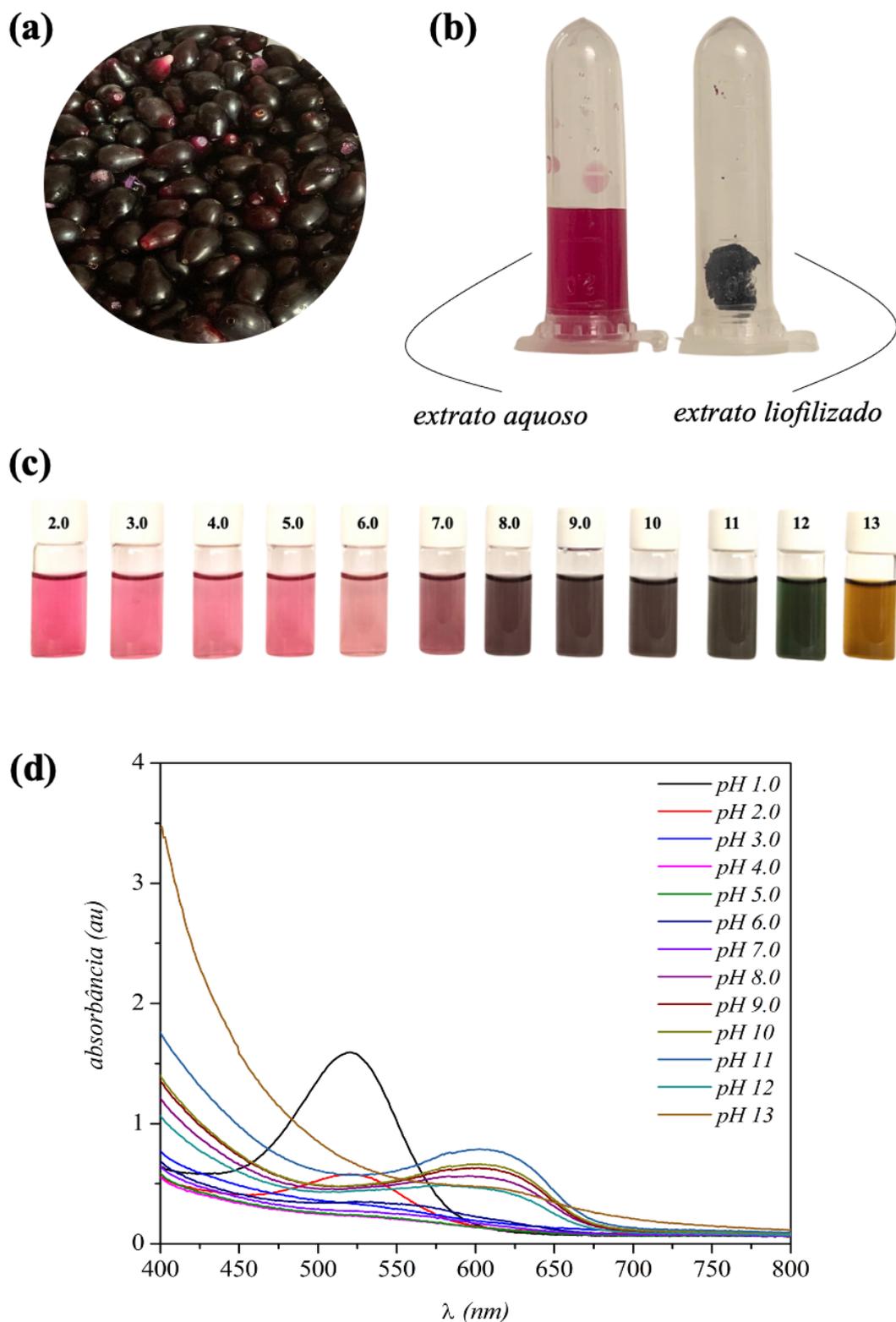


Fig. 1. (a) Frutos do jambolão. (b) Aspecto visual do extrato aquoso do fruto do jambolão antes e após secagem por liofilização. (c) Aspecto visual do extrato do



jambolão quando imerso em soluções com pHs entre 2-13. (d) Espectros de UV-vis obtidos do extrato aquoso do fruto do jambolão quando imerso em soluções com pHs entre 2-13.

As mudanças na coloração do extrato aquoso do fruto do jambolão quando imerso em soluções com pHs entre 2-13 foram também observadas por espectroscopia de UV-vis conforme mostra a Fig. 1d. Como podemos observar, os principais picos de absorção ocorrem nos comprimentos de onda entre 400 e 550 nm. Mais precisamente, quando imersa em meios mais ácidos, as antocianinas apresentam valores de absorção máxima em comprimentos de ondas menores, em torno de 525 nm, indicando a presença de cátion flavílio. Em contrapartida, quando imersa em meios com valores de pH neutro ou levemente básico, nota-se um deslocamento do comprimento de onda de absorção máxima para valores próximos a 600 nm, sugerindo a presença predominante da base quinoidal e chalcona. A concentração inibitório mínima (CIM) do extrato aquoso do fruto do jambolão foi investigado usando dois modelos de bactérias, *Pseudomonas aeruginosa* (modelo gram-negativo) e *Staphylococcus aureus* (modelo gram-positivo), e usando o método de microdiluição em caldo. Conforme mostra a Fig. 2a, a CIM obtida para o extrato aquoso do fruto do jambolão foi de 3,75 mg/mL para ambos os modelos de bactérias.

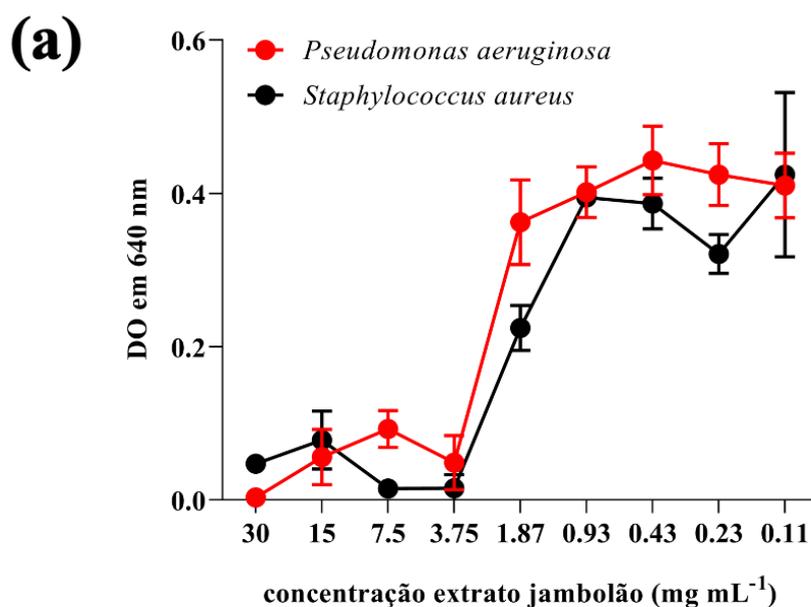


Fig. 2. (a) CIM determinado para o extrato liofilizado do fruto do jambolão contra *P. aeruginosa* e *S. aureus*.

CONCLUSÕES:

Pelos resultados encontrados no trabalho de pesquisa desenvolvido, pode-se concluir que os métodos utilizados para os testes foram adequados. A antocianina encontrada no fruto do jambolão estava em concentração adequada para a realização do estudo e foi capaz de mudar a coloração em razão da mudança do pH.

REFERÊNCIAS:

ARAFI, Asmaa Ahmed *et al.* Preparation and characterization of smart therapeutic pH-sensitive wound dressing from red cabbage extract and chitosan hydrogel. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 182, p. 1820-1831, 1 jul. 2021.

ARRUDA, Mirela Ribeiro Embirassú *et al.* Avaliação de extratos de antocianinas como indicadores de pH obtidos por diferentes métodos. **Brazilian Journal of Food Research**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 87-100, 1 set. 2019.

FOMENTO

O trabalho teve apoio da Universidade do Sul de Santa Catarina.